

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Обща информация

Description

U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple е генетично създадена клетъчна линия за остеосарком, получена от човешката клетъчна линия U-2 OS, известна със своите стабилни характеристики на растеж и полезност в различни биологични изследвания. Този конкретен клон е модифициран с помощта на технологията за редактиране на гени CRISPR/Cas9, за да се включи mMaple, фотоконвертируем флуоресцентен протеин, в гена NUP96. Протеинът mMaple позволява използването на усъвършенствани техники за изобразяване, като например изобразяване на живи клетки и микроскопия със суперразрешение, като осигурява динамичен поглед върху поведението на комплекса на ядрената пора (NPC) и механизмите за клетъчен внос и износ през ядрената обвивка.

Генът NUP96, който кодира ключов компонент на NPC, е жизненоважен за ядреноцитоплазмения транспорт. Промяната на NUP96 може да повлияе не само на механизмите за транспорт, но и на цялостната ядрена архитектура и функция. По този начин тази клетъчна линия служи като отличен модел за изучаване на патологиите, свързани с NPC, и ролята на ядрения транспорт в клетъчния метаболизъм и сигнализация. Интегрирането на mMaple в NUP96 позволява проследяване и визуализиране на динамиката на NUP96 в реално време *in vivo*, което го превръща в незаменим инструмент за изследователите, фокусирани върху проучвания на клетъчното ядро, и за тези, които изследват последиците от дисфункциите на NPC при заболявания като рак и вирусни инфекции.

Като специализиран инструмент U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple клонинг № 16 поддържа изображения с висока резолюция и предоставя съществени данни относно пространственото и времевото разпределение на компонентите на NPC. Той е особено ценен за експерименти, изискващи подробен анализ на генната експресия, локализацията на протеините и ядрения транспорт при физиологични и патологични условия, като улеснява по-дълбокото разбиране на клетъчните процеси на молекулярно ниво.

Organism Човек

Tissue Bone

Disease Остеосарком

Характеристики

Age 15 години

Gender Жена

Ethnicity Кавказки

Growth properties Придържачи се

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Регулаторни данни

Citation	U-2 OS-CRISPR-NUP96-mMaple (каталожен номер 300461 на Cytion)
Biosafety level	1
NCBI_TaxID	9606
CellosaurusAccession	CVCL_B7FK
Depositor	Лабораторията на Елзбърг (EMBL)
GMO Status	GMO-S1: Тази човешка клетъчна линия на остеосарком (U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple, клон 16) съдържа CRISPR-медиран синтез NUP96-mMaple, който позволява фотоконвертируемо маркиране на структурите на ядрените пори. Конструкцията е стабилна. Тази класификация се прилага само в Германия и може да се различава в други страни.

Биомолекуларни данни

Protein expression	NUP96-mMaple (ендогенен протеин на ядрения порен комплекс 96, маркиран с mMaple)
---------------------------	--

Работа с

Culture Medium	McCoys 5a, w: 3,0 g/L глюкоза, w: стабилен глутамин, w: 2,0 mM натриев пируват, w: 2,2 g/L NaHCO ₃ (номер на статията в Cytion 820200a)
Supplements	Допълнете средата с 10% FBS, 1% NEAA
Dissociation Reagent	Accutase
Subculturing	Отстранете старата среда от адхезивните клетки и ги промийте с PBS, която не съдържа калций и магнезий. За колби T25 използвайте 3-5 ml PBS, а за колби T75 - 5-10 ml. След това покрийте клетките изцяло с Accutase, като използвате 1-2 ml за колби T25 и 2,5 ml за колби T75. Оставете клетките да се инкубират на стайна температура за 8-10 минути, за да се отделят. След инкубацията внимателно разбъркайте клетките с 10 ml среда, за да ги ресуспендирайте, след което центрофугирайте при 300xg за 3 минути. Изхвърлете супернатантата, ресуспендирайте клетките в прясна среда и ги прехвърлете в нови колби, които вече съдържат прясна среда.
Seeding density	1×10^4 клетки/cm ²

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461**Fluid renewal** 2 до 3 пъти седмично**Freeze medium**

Като среда за криоконсервация използваме пълна среда за растеж (включително FBS) + 10% DMSO за адекватна жизнеспособност след размразяване или CM-1 (каталожен номер 800100 на Cytion), която включва оптимизирани осмопротектори и метаболитни стабилизатори за подобряване на възстановяването и намаляване на криоиндуцирания стрес.

Thawing and Culturing Cells

1. Уверете се, че флаконът остава дълбоко замразен при доставката, тъй като клетките се транспортират със сух лед, за да се поддържат оптимални температури по време на транспортирането.
2. При получаване или съхранявайте незабавно криовиолата при температури под -150°C , за да осигурите запазване на клетъчната цялост, или преминете към стъпка 3, ако е необходимо незабавно култивиране.
3. За незабавно култивиране бързо размразете флакона, като го потопите във водна баня с чиста вода и антиминобен агент с температура 37°C , като разбърквате внимателно в продължение на 40-60 секунди, докато остане малка ледена бучка.
4. Извършвайте всички следващи стъпки при стерилни условия в аспиратор, като преди отваряне дезинфекцирате криовиолата със 70% етанол.
5. Внимателно отворете дезинфекцирания флакон и прехвърлете клетъчната суспензия в 15 ml центрофужна епруветка, съдържаща 8 ml хранителна среда със стайна температура, като разбърквате внимателно.
6. Центрофугирайте сместа при 300 x g в продължение на 3 минути, за да отделите клетките, и внимателно изхвърлете супернатантата, съдържаща остатъчна замразяваща среда.
7. Внимателно ресуспендирайте клетъчната пелета в 10 ml прясна хранителна среда. За адхезивни клетки разделете суспензията между две колби T25; за суспензионни култури прехвърлете цялата среда в една колба T25, за да стимулирате ефективното взаимодействие и растеж на клетките.
8. Придържайте се към установените протоколи за субкултивиране за непрекъснат растеж и поддържане на клетъчната линия, като гарантирате надеждни експериментални резултати.

Incubation Atmosphere 37°C , 5% CO_2 , овлажнена атмосфера.**Flask Coating**

Няма

Клетки U2OS-CRISPR-NUP96-mMaple | 300461

Freezing Procedure

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Shipping Conditions

Криоконсервираните клетъчни линии се транспортират върху сух лед във валидирана, изолирана опаковка с достатъчно хладилен агент, за да се поддържа приблизително -78°C по време на транспортирането. При получаването незабавно прегледайте опаковката и незабавно прехвърлете флаконите за подходящо съхранение.

Storage Conditions

За дълготрайно съхранение поставете флаконите в течен азот в парна фаза при температура около -150 до -196°C . Съхранението при -80°C е приемливо само като кратък междинен етап преди прехвърлянето в течен азот.

Контрол на качеството / Генетичен профил / HLA

Sterility

Замърсяването с микоплазма се изключва както чрез PCR-базирани анализи, така и чрез луминесцентни методи за откриване на микоплазма.

За да се гарантира, че няма бактериално, гъбично или дрождево замърсяване, клетъчните култури се подлагат на ежедневни визуални проверки.